

乳および乳製品に含まれるアフラトキシンM₁分析法の確立と食の安全への応用

著者	佐久間 久子
学位名	博士(学術)
学位授与機関	共立女子大学大学院家政学研究科人間生活学専攻
学位授与年度	2018年度
学位授与番号	32608乙第30号
URL	http://id.nii.ac.jp/1087/00003303/



【要旨】

近年、食品中の有害な汚染物質は、食品の安全性の観点から人々に対する脅威として認識されている。その中でも人為的に制御が難しいカビ毒は、汚染の許容範囲である基準値を設定する場合、リスク評価を適切に行う必要がある。リスク評価の一つ手段である暴露評価については、妥当性を検証した分析法を用いて汚染物質の実態を把握することが、国際的な食品規格を設定する機関であるコーデックス委員会において推奨されている。

そこで本研究では、乳や乳製品に含まれるアフラトキシン M_1 (AFM₁) を対象とした妥当性のある分析法を確立し、これらの方法を用いて、わが国に流通している乳および乳製品の AFM₁ 汚染実態の把握、および乳製品の製造過程における AFM₁ の挙動について実験的に検証することを目的とした。

第1章「乳に含まれるアフラトキシン M_1 分析法の確立」では、乳と粉乳に含まれる AFM₁ の分析法の確立を目的とし、国際的に認められている同時に複数の試験室で測定を行う室間共同試験の手法に従って、その妥当性を評価した。乳および粉乳の試料としては、人工汚染乳、自然汚染乳、および自然汚染粉乳を用いた。試料中の AFM₁ をイムノアフィニティカラムを用いて精製し、蛍光検出器を用いた高速液体クロマトグラフィーで分析した。この妥当性試験は、液状乳および粉乳を、同時に測定に供した初めての室間共同試験であった。

第2章「乳児用調製粉乳およびフォローアップミルクのアフラトキシン M_1 汚染の把握」では、乳児用調製粉乳は、新生児にとっては唯一の栄養源であることから、汚染実態を正確に把握することが重要なため、第1章で確立した方法で、乳児用調製粉乳およびフォローアップミルクに含まれる AFM₁ を測定した。わが国で流通している乳業メーカー6社から入手した108試料を測定した結果、コーデックス委員会の最大基準値の濃度 (0.5 $\mu\text{g/kg}$) と比較して、その汚染実態は極めて低いレベルであることが明らかになった。

第3章の「チーズおよびバターのアフラトキシン M_1 分析法の確立」では、健康リスクが疑われるクロロホルムを抽出溶媒に用いる従来法の問題を解決するために、健康リスクが指摘されていないアセトニトリル、メタノール、および水の混合溶媒を抽出溶媒として使用し、乳製品（チーズおよびバター）の AFM₁ 測定に適する分析法を開発した。単一試験室による妥当性評価の国際的なガイドラインに従って、従来法と比較検討した。その結果、本研究で開発した分析法は、従来法よりも良好な結果を示し、その有用性が明らかになった。

第4章「輸入乳製品（チーズ、バター、ホエイ粉）のアフラトキシン M_1 汚染の把握」では、乳製品、特にチーズには、製造過程で AFM₁ が原料乳より濃

縮されることが一般に知られているため、わが国への輸入量の多い乳製品の AFM₁ 濃度を測定し、その実態把握を行った。本研究で妥当性が評価された分析法を用いて、チーズ 60 試料、バター 30 試料、およびホエイ粉 30 試料を測定した結果、すべて検出限界以下であった。わが国の輸入乳製品の AFM₁ の汚染実態を、妥当性評価を行った分析法で測定した報告は、本研究が初めてであった。

第 5 章「原料乳からチーズおよびバターへのアフラトキシン M₁ の移行」では、製造過程における AFM₁ の挙動をチーズおよびバターを製造し、検証を行った。原料乳およびチーズとバターに含まれる AFM₁ は本研究で妥当性が確立された方法を用いて測定した。自然汚染乳および人工汚染乳を用いてゴーダチーズを製造し、濃縮価を比較した結果、自然汚染乳由来のチーズの濃縮価の方が高い値であったことから、自然汚染乳中の AFM₁ は、チーズを構成するタンパク質により強く結合していることが示唆された。また、人工汚染乳からバターを製造した結果、AFM₁ はバターに移行はするが、その濃縮価は低い値であることが明らかとなった。

乳の AFM₁ 汚染は、気候変動の影響を受けやすい家畜飼料のアフラトキシン B₁ 汚染と関連しており、定期的なモニタリングと自主検査が必要である。したがって、第 6 章「乳に含まれるアフラトキシン M₁ の簡易分析法の確立」では、単一試験室による妥当性評価に関する国際的なガイドラインに従って、酵素免疫測定法（ELISA 法）による乳中 AFM₁ の分析法の妥当性を確認した。高価な装置を必要としない ELISA 法は、モニタリングおよび自主検査の方法として有用であると考えられた。

以上のように、本研究において分析法としての妥当性が確認された AFM₁ 定量法が確立し、乳および乳製品における AFM₁ 汚染実態が厳密に把握できた。今回の分析に供した乳幼児用の粉乳や輸入乳製品における AFM₁ 汚染量は極めて低かったが、こうした汚染実態の評価は定期的かつ継続的に実施することが重要である。本研究の分析法は、厚生労働省の公定法に採用されたことから、今後もわが国における食の安全確保に大きく貢献できるものと考えている。

博士論文(乙第 30 号)審査結果要旨

論文題目：乳および乳製品に含まれるアフラトキシン M1 分析法の確立と食の安全への応用

学位申請者：佐久間久子

論文審査員：(主査) 共立女子大学大学院 家政学研究科人間生活学専攻 川上 浩 教授

(副査) 同専攻 吉浦健太教授・瀬戸美江教授・後藤純子教授・高橋大輔教授

【予備審査内容】2018 年 12 月 20 日の人間生活学専攻会議および研究科委員会において、本学位申請論文(12 月 13 日提出)の予備審査の実施が承認されたことから、川上 浩教授、吉浦健太教授、瀬戸美江教授の審査員 3 名による予備審査が行なわれた。論文内容の学術性はもとより、基軸となる原著論文 3 報は、いずれも審査のある英文学術誌に掲載されたものであり、博士申請論文の内容として相応しいものであった。原著論文 3 報の博士論文への利用については、共著者全員から同意書が得られていた。また、学位申請者は企業および国立医薬品食品衛生研究所において、研究職および開発職としてのキャリアを 20 年間以上保有していた。以上のように、本学位申請論文は、本審査での評価に相応しいものと判断された。

【本審査内容】2019 年 1 月 17 日の人間生活学専攻会議および研究科委員会において予備審査内容が説明され、本学位申請論文に関する本審査の実施が承認されたことから、(主査)川上 浩教授、(副査)後藤純子教授・高橋大輔教授・吉浦健太教授・瀬戸美江教授の審査員 5 名による本審査が開始された。2 月 7 日に開催された審査会において、論文口頭発表および質疑応答がなされた。質疑応答の主な内容は、開発した分析方法において発表者が特に工夫したこと、乳タンパク質成分とアフラトキシンの親和性に関すること、簡便法を実施できる作業現場に関すること、コーデックス基準と我が国の基準との関係に関することなどであった。学位申請者は、いずれの質問にも的確に回答し、審査員の理解が得られる説明を行った。また、試験(英語論文および独語論文の和訳)も実施され、90 点(100 点満点)であった。さらに、2 月 16 日に公聴会が開催され、学位申請者は口頭発表を行うとともに、多くの出席者の質問に対して的確に回答した。

【本学位申請論文の評価】国際的に認知されている妥当性評価法(室間共同試験法および単一試験室法)によって、分析精度や再現性などが検証された「乳および乳製品におけるアフラトキシン M1 の定量法」を確立したという研究を基幹とする論文である。本定量法は、厚生労働省が国内に通知する公定法(公に定められた方法)として現在採用されている。本学位申請論文では、本定量法を用いて国内で流通する牛乳、粉乳(乳児用調製粉乳・フォローアップミルク・アレルギー疾患児用粉乳・低出生体重児用粉乳)108 検体、および乳製品(チーズ・バター・ホエイ粉)120 検体におけるアフラトキシン M1 汚染の実態を厳密に解析した。また、アフラトキシン M1 汚染乳から乳製品を製造する際におけるアフラトキシン M1 の挙動についても評価し、特定の乳成分と親和性をもつ可能性についても明らかにした。本研究によって開発された分析法は、今後も公定法としてわが国における食の安全確保に多大な貢献をもたらすものと考えられ、博士論文として十分な内容であると判断された。

以上